

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

*Диссертационного Совета Д 001.043.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт гриппа» Министерства здравоохранения Российской Федерации*

*по диссертации Ларионовой Натальи Валентиновны на тему «Возбудитель гриппа: изменчивость в природе и эксперименте», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности «03.02.02 – вирусология»*

Аттестационное дело № \_\_\_\_\_

Решение диссертационного совета от 28 марта 2017 года о соответствии диссертационного исследования Н.В. Ларионовой положению, предъявляемому к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук

Диссертация Ларионовой Натальи Валентиновны «Возбудитель гриппа: изменчивость в природе и эксперименте» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.02-вирусология принята к защите 20 декабря 2016 года, протокол № 5 диссертационным советом Д 001.043.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт гриппа» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, 197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 15/17, утвержденного Приказом №980 н/к от 16 декабря 2013 года.

Соискатель Ларионова Наталья Валентиновна, 1955 года рождения, гражданка РФ, закончила Латвийский ордена Трудового Красного знамени государственный университет им. П. Стучки в 1977 году. В 1984 году защитила кандидатскую диссертацию по специальности 03.00.06-вирусология. Диплом кандидата биологических наук – БЛ № 014280 от 5.06.1985 г.

Диссертационное исследование Ларионовой Н.В. на соискание ученой степени доктора биологических наук выполнено в отделе вирусологии им. А.А. Смородинцева Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины», где соискатель работает с 1995 года, сначала старшим научным сотрудником, а с 2011 года – ведущим научным сотрудником.

Научный консультант:

**Киселева Ирина Васильевна** – доктор биологических наук, доцент, заведующая лабораторией вакцинных штаммов отдела вирусологии им. А.А. Смородинцева ФГБНУ «ИЭМ».

Официальные оппоненты:

**Зверев Виталий Васильевич** - д.б.н., профессор, академик РАН, директор ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»;

**Гамбарян Александра Сергеевна** - д.б.н., заведующая лабораторией молекулярной биологии вирусов гриппа ФГБНУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова»;

**Бурцева Елена Ивановна** - д.м.н., руководитель лаборатории этиологии и эпидемиологии гриппа НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ.

Ведущая организация:

**ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.** Заключение подготовлено д.б.н., доцентом Ильичевой Татьяной Николаевной, заведующей лабораторией серодиагностики гриппа отдела зоонозных инфекций и гриппа и утверждено Врио генерального директора ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека к.б.н. Максютковым Ринатом Амировичем.

По материалам диссертационной работы соискателем опубликовано 49 научных статей, включая 16 статей в журналах, рекомендованных ВАК, и 14 – в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования. Получено 19 патентов на изобретения РФ.

Избранные публикации:

1. Киселева, И.В. Ведущая роль генов полимеразного комплекса в аттенуации отечественной живой гриппозной вакцины А и В/ И.В. Киселева, Н.В. Ларионова, J.T.M. Voeten, L.C.P. Teley, S.K.M. Drieszen-van der Cruijisen, J.G.M. Heldens, J.F. Van den Bosch, Л.Г.Руденко // ЖМЭИ. - 2010. - 6. - С.41-47.
2. Руденко, Л.Г. Живая гриппозная вакцина, итоги разработок и перспективы применения / Л.Г. Руденко, Н.В.Ларионова, И.В. Киселева, И.Н. Исакова-Сивак // Медицинский Академический Журнал. - 2010. - 10(4). - С.235-239.
3. Ларионова, Н.В. Живая гриппозная вакцина из реассортантного штамма А/17/Калифорния/2009/38 (H1N1) - эффективный препарат для профилактики пандемического гриппа / Н.В. Ларионова, И.В. Киселева, А.Н. Миронов, Д.С. Бушменков, С.А. Донина, Г.Д. Петухова, Д.А. Кореньков, А.Н. Найхин, Л.Г. Руденко // Медицинский Академический Журнал. - 2011. - 11(4). - С.3-12.
4. Larionova, N. Peculiarities of reassortment of cold-adapted influenza A master donor virus with viruses possessed avian origin HA and NA H5N1 / N. Larionova, I. Kiseleva, I. Dubrovina, E. Bazhenova, L. Rudenko // Influenza and Other Respiratory Viruses. - 2011.-5(suppl.1). - P.347-349.
5. Киселева, И.В. Анализ состава генома штаммов сезонной и пандемической живой гриппозной вакцины / И.В. Киселева, J.T.M. Voeten, L.C.P. Teley, Н.В. Ларионова, И.А.



- Дубровина, Ж.А. Бердыгулова, Е.А. Баженова, Н. van denBosch, J.G.M. Heldens, Л.Г. Руденко // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. - 2011. - 4. - С.29-36.
6. Ларионова, Н.В. Живая гриппозная вакцина из реассортантного штамма А/17/Калифорния/2009/38 (H1N1) - эффективный препарат для профилактики пандемического гриппа / Н.В. Ларионова, И.В. Киселева, А.Н. Миронов, Д.С. Бушменков, С.А. Донина, Г.Д. Петухова, Д.А. Кореньков, А.Н. Найхин, Л.Г. Руденко // Медицинский Академический Журнал. - 2011. - 11(4). - С.3-12.
7. Larionova, N. Live attenuated influenza vaccines against highly pathogenic H5N1 avian influenza: development and preclinical characterization / N. Larionova, I. Kiseleva, I. Isakova-Sivak, A. Rekstin, I. Dubrovina, E. Bazhenova, T. M. Ross, D. Swayne, L. Gubareva, V. Tsvetnitsky, E. Fedorova, E. Doroshenko, L. Rudenko // Journal of Vaccines and Vaccination. - 2013. - 4(8). - P.1-11. doi: 10.4172/2157-7560.1000208.
8. Киселева, И.В. Особенности реассортации современных штаммов вируса гриппа с донорами аттенуации живой гриппозной вакцины / И.В. Киселева, Е.А. Баженова, Н.В. Ларионова, Е.А. Федорова, И.А. Дубровина, И.Н. Исакова-Сивак, Л.Г. Руденко // Вопросы вирусологии. - 2013. - 5. - С.26-31.
9. Larionova, N.V. Contribution of neuraminidase of influenza viruses to the sensitivity to serum inhibitors and reassortment efficiency / N.V. Larionova, I.V. Kiseleva, E.A. Bazhenova, E.A. Fedorova, I.A. Dubrovina, I.N. Isakova-Sivak, L.G. Rudenko // Molecular Genetics, Microbiology and Virology. - 2014. - 29(3). - P. 130-138.

На автореферат диссертации поступили отзывы от:

- 1) д.б.н., профессора Елены Ивановны Рябчиковой, заведующей группой микроскопических исследований ФГБУН Института химической биологии и фундаментальной медицины» Сибирского отделения РАН, Новосибирск. Отзыв положительный, замечаний нет;
- 2) д.б.н. Светланы Яковлевны Логиновой, ведущего научного сотрудника отдела опасных вирусных инфекций ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Московская обл., Сергиев Посад-6. Отзыв положительный, замечаний нет;
- 3) д.б.н. Елены Александровны Муриной, руководителя отдела вирусологии и молекулярно-биологических методов исследования ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России, Санкт-Петербург. Отзыв положительный, замечаний нет;
- 4) д.б.н. Натальи Алексеевны Мазурковой, заведующей лабораторией препаратов природного происхождения ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово Новосибирская область. Отзыв положительный, замечаний нет;
- 5) д.б.н., доцента, Евгения Ивановича Бореко, главного научного сотрудника лаборатории гриппа и гриппоподобных заболеваний и к.м.н., доцента Натальи Васильевны Грибковой, руководителя национального центра по гриппу ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии» Минздрава Республики Беларусь. Отзыв положительный, замечаний нет;

- б) к.б.н. Юрия Михайловича Васильева, заместителя директора по научной работе ФГУП СПб НИИ вакцин и сывороток ФМБА, Санкт-Петербург, Красное Село. Отзыв положительный, замечаний нет.

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации** обосновывается их высокой квалификацией, заинтересованностью в тематике представленного научного исследования, собственными значительными достижениями в данной отрасли науки, наличием публикаций по теме диссертации и способностью определить научную и практическую ценность выполненной научно-исследовательской работы.

**Диссертационный совет отмечает, что** раскрытие механизмов изменчивости вируса гриппа остается до сих пор нерешенной проблемой, несмотря на то, что этот вопрос изучался на протяжении нескольких десятков лет. В связи с этим работа Н.В. Ларионовой, посвященная изучению молекулярно-генетических механизмов изменчивости и аттенуации вируса гриппа, является своевременной и актуальной.

**На основании выполненных соискателем исследований:**

**Впервые** установлена единая роль мутантных генов полимеразного комплекса в формировании у холодадаптированных вирусов гриппа А и В аттенуированного фенотипа.

**Впервые** прослежены закономерности эволюции вирусов гриппа А и В по признаку температурочувствительности к репродукции за верхними пределами температурного оптимума. Высказано предположение, что эволюцию вирусов гриппа следует оценивать не только с позиции изменчивости антигенной структуры гемагглютинаина и нейраминидазы, но и учитывать такие биологические признаки, как температурочувствительность репродукции.

**Впервые** представлены различия антигенных ветвей Виктория- и Ямагата-подобных вирусов гриппа В по признаку устойчивости к неспецифическим термостабильным ингибиторам нормальной сыворотки крови лошади, что может указывать на различия в их рецепторной специфичности.

**Продемонстрирована** зависимость частоты формирования вакцинных штаммов с формулой генома 6:2 от фенотипических свойств «диких» родительских вирусов гриппа А и В.

**Впервые** установлено влияние нейраминидазы ингибиторостойчивого донора аттенуации на снижение степени ингибиторочувствительности реассортантов, наследующих от ингибиторочувствительных «диких» вирусов гриппа единственный ген гемагглютинаина. Выявленная закономерность свидетельствует о совместном участии НА и NA вируса гриппа в формировании признака ингибиторочувствительности.



**Разработана** новая методология подготовки потенциально пандемических живых гриппозных вакцин на основе высокопатогенных вирусов гриппа птиц А(Н5N1).

Доклиническая характеристика авторских пандемических и потенциально пандемических вакцинных штаммов живой гриппозной вакцины показала их генетическую и фенотипическую стабильность, аттенуацию, высокую иммуногенность и протективную активность в экспериментах *in vivo*.

**Впервые** на добровольцах, привитых живой гриппозной вакциной против высокопатогенного вируса гриппа птиц из авторского штамма А/17/индок/Турция/05/133 (Н5N2) показана высокая приживляемость, фенотипическая и генетическая стабильность аттенуирующих мутаций в реиолятах вакцинного вируса от привитых, отсутствие трансмиссивности непривитым лицам группы плацебо.

**Теоретическая значимость исследования обусловлена тем, что** многолетние наблюдения за изменчивостью биологических характеристик циркулирующих вирусов гриппа А и В позволили обосновать присущую вирусам гриппа закономерность эволюции по признакам температурочувствительности репродукции, чувствительности к неспецифическим ингибиторам сыворотки крови.

Полностью охарактеризован с молекулярно-генетических позиций донор аттенуации В/СССР/60/69, установлена роль его мутантных генов в аттенуации и сформулировано представление о существовании единых для холодоадаптированных вирусов гриппа А и В молекулярно-генетических детерминант аттенуации.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что** работа открывает новый этап в получении и быстром лабораторном контроле реассортантных вакцинных штаммов для производства живой гриппозной вакцины для взрослых и детей на основе современных сезонных и потенциально пандемических штаммов вируса гриппа. Результаты исследований позволили экспериментально обосновать новые подходы к конструированию живой гриппозной вакцины, что имеет большое народнохозяйственное значение. Н.В. Ларионовой подготовлено 20 холодоадаптированных реассортантных вакцинных штаммов живой гриппозной вакцины, основная часть которых была запущена в промышленное производство и использовалась для массовой вакцинации детей и взрослых.

**Оценка достоверности результатов исследования.** Подлинность и обоснованность результатов работы обеспечены использованием современных средств и методов проведения исследований, значительным объемом выполненных исследований, большим

массивом полученных данных и комплексным анализом полученных результатов.

**Личный вклад соискателя.** Автор планировала, выполняла и обрабатывала результаты всех экспериментальных разделов работы. Автором лично проведен анализ литературных и собственных данных, обобщены результаты исследований и подготовлены материалы к публикациям.

**На заседании 28 марта 2017 года диссертационный совет Д 001.043.01** сделал вывод о том, что диссертационная работа «Возбудитель гриппа: изменчивость в природе и эксперименте», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.02-вирусология, является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой, теоретическое значение которой можно квалифицировать как новое достижение в развитии фундаментальной и прикладной вирусологии. В работе сформулирована концепция единства молекулярно-генетических детерминант аттенуации для холодоадаптированных вирусов гриппа А и В. Это открывает новый этап в подготовке и быстром первичном скрининге реассортантных вакцинных штаммов живой гриппозной вакцины для взрослых и детей, что имеет большое народно-хозяйственное значение.

По актуальности, объему выполненных исследований, их новизне и практической значимости представленная работа соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук. Диссертационный совет рекомендует ВАК утвердить соискателя Наталью Валентиновну Ларионову в искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.02-вирусология.

**При проведении тайного голосования диссертационный совет** в количестве 15 человек, из них 14 докторов наук по специальности 03.02.02-вирусология, участвовавших в заседании, из 20 человек, входящих в состав совета, проголосовали:

за присуждение ученой степени доктора биологических наук – 15 человек;

против присуждения ученой степени – нет;

недействительных бюллетеней – нет.

Председатель Диссертационного совета Д 001.043.01

д.б.н.

Жилинская И.Н.

Ученый секретарь Диссертационного совета Д 001.043.01

к.б.н.

Амосова И.В.

